

CONTENIDO DE ADN NUCLEAR EN HIBRIDOS F₁ ENTRE TEOSINTE PERENNE Y MAIZ

I. G. Palacios (1)

Recibido: 21/4/82

Aceptado: 25/8/82

RESUMEN

El contenido de ADN nuclear en células meristemáticas de punta de raíz fue determinado en plantas de la F₁, producto del cruzamiento entre teosinte perenne (*Euchlaena perennis* = *Zea perennis*) y maíz (*Zea mays*) de la línea Gaspé y en plantas de cada uno de sus progenitores. Tales determinaciones fueron realizadas por técnicas microespectrofotométricas en núcleos en estado de telofase con un contenido de ADN 2 C*. Se determinó que el teosinte tiene un 50 por ciento más de ADN que el maíz Gaspé, encontrándose diferencias altamente significativas entre los progenitores y entre cada uno de ellos y la F₁. Se encontraron diferencias significativas en el área nuclear entre la F₁ y *Zea mays*. Entre ambos padres no se encontraron diferencias en los valores de densidad de ADN (ADN/Área), sin embargo la F₁ tiene más densidad de ADN en sus cromosomas que ambos padres y fueron halladas diferencias altamente significativas. Una estrecha correlación entre área nuclear (AN), densidad de ADN (dADN) y contenido de ADN (ADN) en Gaspé, teosinte perenne y la F₁ fue encontrada. El contenido de ADN en los individuos F₁ es mayor que el contenido de cada uno de los progenitores, este hecho se debe a un gran aumento en la densidad de ADN, posiblemente debido al fenómeno de polinemia diferencial. El gran contenido de ADN en los núcleos del híbrido F₁ fue mayor al esperado, este hecho hace suponer que esta amplificación de ADN puede explicar este fenómeno, el cual podría estar asociado con heterosis morfológica mostrada por estos híbridos.

NUCLEAR DNA CONTENT IN F₁ HYBRIDS BETWEEN PERENNIAL TEOSINTE AND MAIZE

SUMMARY

Nuclear DNA content of meristematic root tip cells were determined in F₁ hybrids between perennial teosinte and maize (Gaspé) and in its parents by microspectrophotometric measurements on 2C anaphase nuclei. Perennial teosinte has approximately 50% more DNA per 2C nucleus than *Zea mays*. Highly significant differences were found in DNA content between parents and with respect to F₁ cross. For nuclear area significant differences were found between F₁ and *Zea mays*. The two parents no differ in DNA density, however F₁ has more DNA density than both parents and were found significant differences. A close correlations were found between nuclear area (NA), DNA density (DNAd) and DNA content (DNA) in Gaspé perennial teosinte and F₁. The DNA content of F₁ plants is higher than DNA content of both parents. This fact is due to a higher DNA density, perhaps possible due to differential polynemy. The high DNA content in F₁ plants was greater than to be expected. This fact, led to us to suppose that this amplification of DNA in F₁ would explain this phenomenon, perhaps associate with morphological heterosis showed by the hybrids.

(1) Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, Universidad Nacional de La Plata, Dirección Postal: Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, Casilla de Correo 4, (1836) Llavallol, provincia de Buenos Aires.

* Valor C: en eucariotes, se refiere a la cantidad de ADN por grupo de cromosomas, expresándose el contenido de ADN en núcleos diploides como el valor 2C.

INTRODUCCION

En la formación de alotetraploides producto de la hibridación de individuos con una medida diploide de ADN nuclear, el nivel de éste en la progenie tendría que ser igual, teóricamente, a la suma de los niveles diploides de ADN de cada uno de los padres.

Entre los autores que obtuvieron esos resultados pueden citarse a Bullen y Rees (1972), quienes realizaron determinaciones cuantitativas de ADN nuclear en avena, estableciendo entre las especies diploides, tetraploides y hexaploides una relación de 1: 2: 3 para la medidas de ADN.

De este modo no encontraron evidencias de pérdidas o ganancias de ADN en la formación de poliploides.

Rees y Jones (1967) realizaron hibridaciones entre *Lolium temulentum* y *Lolium perenne*. La primera especie tiene aproximadamente un 35 por ciento más de ADN en núcleos 2C que la segunda, obteniendo en el análisis de ADN en núcleos 2C valores intermedios entre los valores de los padres.

En el género *Brassica*, Verma y Rees (1973), mediante la corrección de las lecturas de ADN en núcleos densos, determinaron que las medidas de ADN de alotetraploides de ese género era igual a la suma de los niveles de ADN aportados por cada progenitor.

Yakhin y col. (1980), encuentran que en líneas de maíz, el contenido de copias de ADNr en híbridos es intermedia entre el de los padres o muy cercano a el del progenitor de mayor contenido.

A diferencia de los resultados obtenidos por los autores anteriormente mencionados, Shereverya (1979), en estudios realizados en granos híbridos F₁, F₂ y sus progenitores en *Zea mays*, encuentran mayores medidas de ácidos nucleicos en los granos híbridos que en los padres, pero no hallan correlación entre contenido de ácido nucleico y grado de heterosis de los híbridos.

En el presente trabajo se persigue como objetivo analizar el nivel de ADN en híbridos interespecíficos del género *Zea*. Para ello se

estudiarán híbridos entre maíz y uno de sus parientes silvestres que es teosinte perenne.

Esos híbridos son triploides (2n: 30 cromosomas) y parcial o casi totalmente estériles, no obstante lo cual manifiestan una elevada heterosis (Magoja, 1980), especialmente en caracteres de prolificidad.

Resulta consecuentemente de interés analizar si existe correspondencia de esa heterosis con los niveles de ADN en los híbridos, ya que se encontraron, como es señalado por Magoja y Nivio (1981), nuevos componentes moleculares de las proteínas de los híbridos que no aparecen en los progenitores.

MATERIALES Y METODOS

Se emplearon granos F₁ obtenidos al cruzar teosinte perenne por la línea de maíz Gaspé. Los granos F₁ fueron cosechados en 1977 y son perfectamente viables como es señalado por Magoja (1980). En el mismo año se cosecharon granos de los progenitores: teosinte perenne (*Euchlaena perennis* Hitch = *Zea perennis* Reeves and Mangelsdorf) y maíz (*Zea mays* L.) de la línea Gaspé. Teosinte perenne tiene 2n: 40 cromosomas, mientras que maíz posee 2n: 20 cromosomas; las F₁ poseen la suma de las dotaciones haploides de los progenitores, es decir, 2n: 30 cromosomas.

Los granos correspondientes a cada uno de los progenitores y la progenie F₁ fueron puestos a germinar en cajas de Petri sobre papel de filtro húmedo, en estufa a 28°C de temperatura.

Las puntas de raíz fueron cortadas y fijadas en Carnoy (3:1, etanol-ácido acético) durante 24 horas.

Luego de tratadas con el fijador fueron colocadas en etanol 70° para su conservación y guardadas en heladera a 4°C.

Coloración

Las raicillas fueron hidrolizadas en HCl 1N a 60°C durante 6 minutos (Mc Leish y Sunderland, 1961).

Retiradas del ácido caliente fueron rápidamente lavadas en HCl frío en la misma concentración y teñidas en coloración Feulgen durante 2 horas a temperatura ambiente (De Tomasi, Darlington y La Cour, 1942).

Las puntas de raíz teñidas fueron lavadas en agua sulfurosa (3 cambios de 10 minutos cada uno) y por último en agua destilada. Con el objeto de favorecer, al hacer el aplastado, una adecuada separación de los núcleos, evitando superposiciones celulares que serían causa de error en las mediciones, las raicillas fueron tratadas con pectinasa al 10 por ciento durante 1 hora a 37°C. Luego se lavaron en agua destilada y secaron sobre un portaobjetos en ácido acético al 45 por ciento, montadas en cubreobjetos y parafinadas.

Las preparaciones de los núcleos de raíz teñidos fueron examinados el mismo día y durante un lapso de no más de 3 horas.

Mediciones microespectrofotométricas

Para las determinaciones cuantitativas de ADN fue utilizado un Microespectrofotó-

metro Carl Zeiss MPM con una longitud de onda de 560 nm.

El método de medición aplicado ha sido detallado oportunamente por Palacios (1978).

Las mediciones fueron realizadas sobre núcleos en estado de telofase en los que se estima un contenido de ADN 2C.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el Cuadro 1 se dan los valores de contenido de ADN, área nuclear y densidad de ADN del híbrido y de cada uno de sus progenitores.

Los resultados obtenidos muestran que el nivel de ADN del teosinte perenne es aproximadamente un 50 por ciento superior al del maíz Gaspé y que en el híbrido ese nivel se incrementa con respecto a cada progenitor en forma altamente significativa (Cuadro 2).

La distribución de los valores de contenido de ADN nuclear en cada uno de los progenitores y en la F₁ está representada en la Figura 1.

CUADRO 1: Contenido de ADN nuclear (ADN), área nuclear (AN) y densidad de ADN (dADN) en teosinte perenne (Ep), Gaspé (Gs) y la F₁ (Ep x Gs).

Especie o Cruzamiento	ADN (U.A.) *	AN (u ²)	dADN (ADN/AN)
Ep	31,6 ± 5,9	42,9 ± 9,6	0,7564 ± 0,16
Gs	23,2 ± 3,3	31,9 ± 6,2	0,7482 ± 0,15
Ep x Gs	41,4 ± 12,5	39,9 ± 11,3	1,046 ± 1,07

* U.A.: Unidades arbitrarias de ADN.

CUADRO 2: Diferencia entre promedios (prueba de "t") de contenido de ADN nuclear entre teosinte perenne (Ep), Gaspé (Gs) y la F₁ (Ep x Gs).

Especie o Cruzamiento	\bar{x}	S ²	N	Especie o Cruzamiento	\bar{x}	S ²	N	t	Signif.
Ep	31,6	34,6	100	Gs	23,2	10,8	90	11,9950	**
Ep	31,6	34,6	100	Ep x Gs	41,4	152,6	50	6,5913	**
Gs	23,2	10,8	90	Ep x Gs	41,4	152,6	50	13,2133	**

** Significativo al 1%.

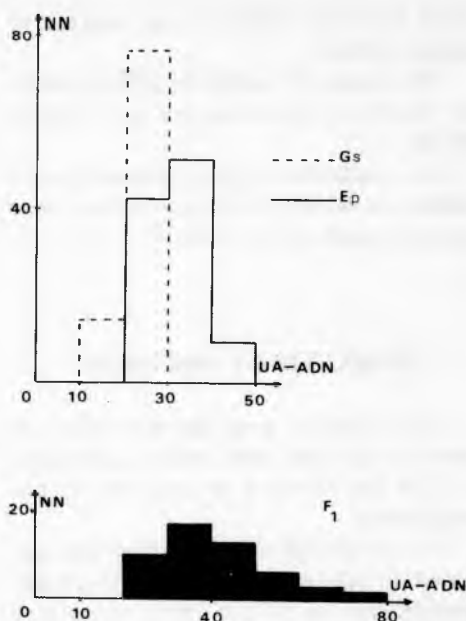


Figura 1: Distribución de los valores de contenido de ADN en el número de núcleos analizados en cada uno de los progenitores y en el híbrido.

Referencia: Gs: Progenitor maíz; Ep: Progenitor teosinte perenne; F1: híbrido; UA-ADN: Unidades arbitrarias de ADN.

Existe un significado estadístico para las diferencias entre el contenido de ADN nuclear del teosinte perenne, del maíz Gaspé y el de la F1 y el de cada progenitor (Cuadro 2).

Estos resultados no concuerdan con los de Rees y Jones (1967), Verma y Rees (1974), Yakhin y Gilyazetdinov (1979), quienes para las F1 de híbridos entre espe-

cies que difieren en el nivel de ADN nuclear han hallado generalmente, un nivel intermedio entre los de sus progenitores.

En los híbridos entre teosinte y maíz no sólo el nivel de ADN no es intermedio sino que supera al de sus progenitores.

El área nuclear (Cuadro 1) es mayor en teosinte perenne que en maíz, tal como se esperaba dado el mayor número cromosómico del teosinte ($2n:40$) que el de maíz ($2n:20$).

El área nuclear del híbrido no difiere significativamente de la del teosinte perenne (Cuadro 3), pero sí existen diferencias altamente significativas entre aquella y la del maíz.

Si se tiene en cuenta que el número cromosómico en la F1 es de $2n:30$ (resultado de una dotación de teosinte ($n:20$) y una de maíz ($n:10$), el área nuclear por cromosoma para el teosinte es de lu^2 y para Gaspé $1.6u^2$ y en el híbrido se obtiene un valor de $1.3u^2$ intermedio al de ambos progenitores.

La densidad de ADN (Cuadro 1) es aproximadamente igual en el teosinte perenne que en el maíz Gaspé y no existen entre sus valores diferencias significativas (Cuadro 4).

Sin embargo el híbrido tiene mayor densidad que la de cada uno de sus progenitores, la que se diferencia de las mismas significativamente (Cuadro 4).

De estos resultados puede deducirse que el mayor nivel de ADN nuclear en los híbridos puede, primariamente, asociarse a una mayor densidad de ADN y a un mayor contenido de ADN por cromosoma (Cuadro 5). El contenido de ADN por cromosoma es ma-

CUADRO 3: Diferencia entre promedios (prueba de "t") de área nuclear entre teosinte perenne (Ep), Gaspé (Gs) y la F1 (Ep x Gs).

Especie o Cruzamiento	\bar{x}	S2	N	Especie o Cruzamiento	\bar{x}	S2	N	t	Signif.
Ep	42,9	90,9	100	Gs	31,9	37,9	90	9,3585	**
Ep	42,9	90,9	100	Ep x Gs	39,9	125,9	50	1,7109	NS
Gs	31,9	37,9	90	Ep x Gs	39,9	125,9	50	5,4649	**

** Significativo al 1%.

NS No significativo.

CUADRO 4: Diferencia entre promedios (prueba de "t") de densidad de ADN entre teosinte perenne (Ep), Gaspé (Gs) y la F₁ (Ep x Gs).

Especie o Cruzamiento	\bar{x}	S ²	N	Especie o Cruzamiento	\bar{x}	S ²	N	t	Sig.
Ep	0,7564	0,0255	100	Gs	0,7482	0,0233	90	0,3612	NS
Ep	0,7564	0,0255	100	Ep x Gs	1,046	0,0341	50	9,9178	**
Gs	0,7482	0,0233	90	Ep x Gs	1,046	0,0341	50	10,2690	**

** Significativo al 1%.

NS No significativo.

CUADRO 5: Diferencia entre promedios (prueba de "t") de contenido de ADN por cromosoma entre teosinte perenne (Ep) Gaspé (Gs) y la F₁ (Ep x Gs).

Especie o Cruzamiento	\bar{x}	S ²	N	Especie o Cruzamiento	\bar{x}	S ²	N	t	Sig.
Ep	0,7926	0,0212	100	Gs	1,1605	0,0271	90	16,4241	**
Ep	0,7926	0,0212	100	Ep x Gs	1,3783	0,1696	50	48,0082	**
Gs	1,1605	0,0271	90	Ep x Gs	1,3783	0,1696	50	15,8832	**

** Significativo al 1%.

CUADRO 6: Coeficiente de correlación (r) entre área nuclear (AN) y contenido de ADN (ADN) en Gaspé (Gs) teosinte perenne (Ep) y su F₁ (Ep x Gs).

Especie o Cruzamiento	r	N	Signif.
Gs	0,288	90	**
Ep	0,435	100	**
Ep x Gs	0,814	50	**

** Significativo al 1%.

yor en el maíz Gaspé que en el teosinte perenne, pero las F₁ tienen un nivel superior al de los progenitores, diferenciándose de ambos significativamente (Cuadro 5).

Existe correlación positiva significativa entre área nuclear (AN) respecto a contenido de ADN nuclear (ADN) (Cuadro 6) y densidad de ADN (dADN) respecto a contenido de ADN nuclear (ADN) (Cuadro 7) en Gaspé (Gs), teosinte perenne (Ep) y sus F₁.

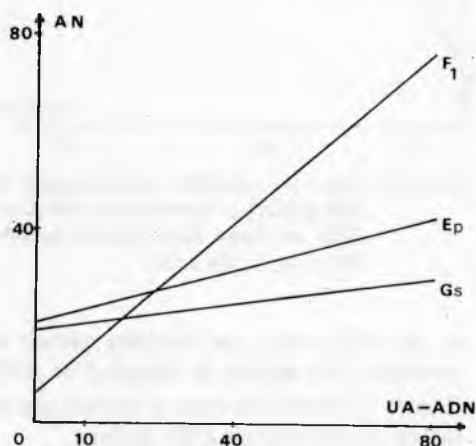


Figura 2: Rectas de regresión entre área nuclear (AN) y contenido de ADN (U.A.-ADN) en Gaspé (Gs), teosinte perenne (Ep) y sus F₁ (Ep x Gs).

Las correlaciones entre los valores citados anteriormente están representadas gráficamente en las Figuras 2 y 3.

En la Figura 2 se observa que el área nuclear aumenta con el incremento del contenido

CUADRO 7: Coeficiente de correlación (r) entre densidad de ADN (dADN) y contenido de ADN (ADN) en Gaspé (Gs), teosinte perenne (Ep) y su F_1 (Ep x Gs).

Especie o Cruzamiento	r	N	Signif.
Gs	0,414	90	**
Ep	0,467	100	**
Ep x Gs	0,40	50	**

** Significativo al 1%.

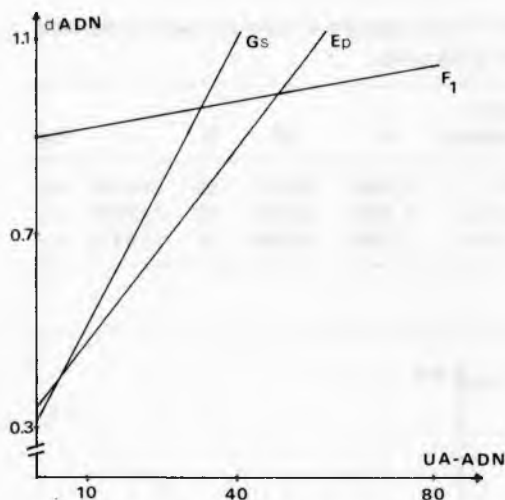


Figura 3: Rectas de regresión entre densidad de ADN (dADN) y contenido de ADN (U.A.-ADN) en Gaspé (Gs), teosinte perenne (Ep) y sus F_1 (Ep x Gs).

do de ADN, como así también cuando se consideran los valores de densidad de ADN (Figura 3), éstos aumentan a medida que es mayor el contenido de ADN nuclear.

Autores como Sunderland y Mc Leish (1961) y Gupta P. K. (1976) han llegado a las mismas conclusiones, en desacuerdo con los anteriores resultados, Paroda y Rees (1971) en *Eu-Sorghum*, y Ayonoadu (1974) en *Phaseolus* obtuvieron valores decrecientes en densidad de ADN con respecto a incrementos en la medida de ADN nuclear.

Las diferencias obtenidas en contenido

de ADN entre ambos progenitores concuerdan con lo esperado, relacionándose a la dotación cromosómica de cada progenitor, siendo mayor el contenido de ADN en teosinte el cual posee $2n:40$ respecto de *Zea mays* con $2n:20$ y con un contenido menor de ADN.

Las correlaciones positivas obtenidas entre el área nuclear y el contenido de ADN entre la densidad de ADN y el contenido de ADN son sugeridas como las principales causas de variaciones de ADN en el híbrido.

Un valor interesante lo constituye el notable aumento de la densidad de ADN en la F_1 , la cual estaría asociada a cambios estructurales dentro del cromosoma ocasionados por un proceso de polinemia diferencial.

Este fenómeno que ocasiona una amplificación del ADN en el híbrido, podría estar asociado con la heterosis que se manifiesta en los híbridos.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Ayonoadu, U. W. U., 1974. Nuclear DNA variation in *Phaseolus*. *Chromosoma*, 48: 41-49.
- 2) Bullen, M. R. and H. Rees, 1972. Nuclear variation within *Avenae*. *Chromosoma*, 39: 93-100.
- 3) De Tomasi, Darlington and La Cour, 1942. The Handling of chromosomes. 1^o Ed.: 110.
- 4) Dhillon, S. S., 1980. Nuclear volume, chromosome size and DNA content relationships in three species of *Pinus*. *Cytologia*, 45: 555-560.
- 5) Gupta, P. K. and H. Rees, 1975. Tolerance of *Lolium* hybrids to quantitative variation in nuclear DNA. *Nature*, 257: 587-588.
- 6) Gupta, P. K., 1976. Nuclear DNA, nuclear area and nuclear dry mass in thirteen species of *Crotalaria* (Angiospermae, Leguminosae). *Chromosoma*, 54: 155-164.
- 7) Gupta, P. K., 1979. Nuclear DNA and meiosis in parents, F_1 hybrids and F_2 segregates of a *Lolium temulentum* x *L. rigidum* cross. *The Nucleus*, 22: 177-181.
- 8) Magoja, J. L., 1980. La primera generación (F_1) de un híbrido entre teosinte perenne y una línea muy precoz de maíz. Comunic. Direc. Inv. Univ. Nac. Lomas de Zamora. Año 3. No 10.
- 9) Magoja, J. L. y A. A. Nivio, 1981. Influencia del germoplasma de teosinte perenne en el patrón polipeptídico de las proteínas del endos-

- perma de maíz. Rev. de la Univ. Nac. de Lomas de Zamora. No 1. Año 1. (En prensa).
 - 10) Mc. Leish and Sunderland, 1961. Measurements of deoxyribonucleic acid (DNA) in higher plants by Feulgen photometry and chemical methods. *Exp. Cell Res*, 24: 527-540.
 - 11) Palacios, I. G., 1978. Determinación de la cantidad relativa de DNA en líneas isogénicas de *Triticum aestivum* en su propio citoplasma y en citoplasma de *T. timopheevi*. *Rev. Agr. La Plata*, Argentina (3o época) t. LIV. 88-97.
 - 12) Paroda, R. S. and H. Rees, 1971. Nuclear DNA variation in Eu-Sorghum. *Chromosoma*, 32: 353-363.
 - 13) Rees, H. and G. H. Jones, 1967. Chromosome evolution in *Lolium*. *Heredity*, 22: 1-18.
 - 14) Shereverya, N. I., 1979. Content of nucleic acids in hybrids grains of maize and the manifestation of heterosis. *Plant Breed. Abstracts*, 49 (9): 7746-8612.
 - 15) Verma, S. C. and H. Rees, 1974. Nuclear DNA and the evolution of allotetraploid Brassicae. *Heredity*, 33: 61-68.
 - 16) Yakhin, I. A. and S. H. Gilyazetdinov, 1979. Study of the content of rDNA in the cells of individual tissues and organs of pure lines and hybrids of maize. *Plant Breed. Abstracts*, 49 (10): 8613-9813.
-